

单宁含量检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
PYHD3-M48	单宁含量检测试剂盒	48T	微量法
PYHD3-M96		96T	

一、测定意义

单宁又称植物多酚，是一类结构复杂的高分子多元酚类化合物，具有抗氧化、抑菌、抗肿瘤、杀虫等多种生物及药理活性，与蛋白质具有良好的结合能力，与生物碱、酶、金属离子等具有良好的反应活性，在医药、食品、化妆品和水处理等领域具有十分重要的应用和开发价值。

二、测定原理

单宁在 275 nm 处具有特征吸收峰，活性炭能够特异吸附单宁，通过测定 275 nm 处吸光值变化即可定量检测单宁的含量。

三、试剂组成

试剂名称	试剂装量 (48T)	试剂装量 (96T)	保存条件
提取液	液体 60 mL×1 瓶	液体 120 mL×2 瓶	2-8℃保存
试剂一	粉剂×1 瓶	粉剂×1 瓶	2-8℃保存
标准品 (10mg 单宁酸)	粉剂×1 支	粉剂×1 支	2-8℃避光保存
使用前加入 1.175 mL 提取液充分溶解（即为 5000 nmol/mL 单宁酸标准液）			

四、操作步骤

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

取一定量植物组织擦净水分及杂质，剪碎后放入研钵，加入液氮，研磨成粉状后转移出来，然后准确称重，按照组织质量 (g)：提取液体积 (mL) 为 1：10~20 的比例（建议称取约 **0.05g** 组织，加入 **1mL** 提取液），充分匀浆后转移到 EP 管中，盖紧后 70℃ 浸提 30min，期间可震荡数次，取出用提取液定容至 2mL，12000rpm，常温离心 10min，取上清液待测。

二、测定步骤

1、酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 275nm，蒸馏水调零；

2、操作表（在 1.5mL 离心管中依次加入下列试剂）：

试剂名称	测定管	对照管	标准管	空白管
上清液 (μL)	500	500	-	-

标准液 (μL)	-	-	500	-
提取液 (μL)	-	-	-	500
试剂二 (mg)	5-7	-	-	5-7

充分振荡混匀 5 min, 12000 g 常温离心 20 min, 取上清液(若上清中仍有颗粒或浑浊, 应多次离心至完全清澈)。吸取 200 μL 上清液至 96 孔 UV 板或微量石英比色皿中, 测定 275 nm 处吸光值, 记为 A 测定、A 对照、A 标准和 A 空白; 计算 ΔA 测定 = A 对照 - A 测定, ΔA 标准 = A 标准 - A 空白。

注: 每个样品均需设一个对照管, 空白管只需测定 1-2 次。

五、单宁含量的计算：

1、标准曲线的建立：根据标准管的浓度(y, nmol/mL)和吸光度 ΔA 标准(x, ΔA 标准), 建立标准曲线。根据标准曲线, 将 ΔA 测定(x, ΔA 测定)带入公式计算样本浓度(y, nmol/mL)。

2、按样本质量计算：

单宁含量 (nmol/g) = $y \times V_{\text{提取}} \div W = y \div W$ 。

3、按样本蛋白浓度计算：

单宁含量 (nmol/mg prot) = $y \times V_{\text{提取}} \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{提取}}) = y \div C_{\text{pr}}$ 。

V 提：提取后总体积, 1 mL; Cpr: 样本蛋白浓度, mg/mL; W: 样本质量, g。

六、注意事项：

1、若测定吸光值超出标准线性吸光值范围：高于最高值建议将待测样本使用提取液适当稀释后 再进行测定, 低于最低值建议适当增加样本量或调整提取液加入量重新提取后再进行测定, 计算时相应修改;

2、样本蛋白浓度测定需使用 PBS 单独提取后再进行测定;

3、为保证结果准确且避免试剂损失, 测定前请仔细阅读说明书(以实际收到说明书内容为准), 确认试剂储存和准备是否充分, 操作步骤是否清楚, 且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定, 过程中问题请您及时与工作人员联系。